

一种坛紫菜叶状体测定新方法研究

俞辰泽, 骆其君*, 余 贝, 严小军

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 通过一系列试验探究坛紫菜不同生物量的指标, 以期用测量叶面积的方式来替代传统测量指标. 研究了环境的光、温、湿度对于叶面积测定结果的影响, 明确其适用范围; 设计了相关性、变异系数、标准差与增量比值的试验. 结果表明, 叶面积与干重的相关性极其显著; 叶面积的变异系数最小, 均小于 1%, 其标准差与增量比值也小于其他指标. 同时也表明, 在坛紫菜的实验生态研究中, 叶面积以其灵敏性、简便、精确更占优势, 其可以作为紫菜等海藻形态、育种研究的一项重要指标.

关键词: 紫菜; 叶面积; 干重; 变异系数

中图分类号: S968.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 03-0019-05

紫菜味美且营养价值高, 它含有人类所需的许多营养成分^[1]. 坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)是我国主要栽培品种^[2], 在广东、浙江、福建三省的沿海广泛栽培^[3], 并且产量大, 在我国紫菜总产量中约占 75%左右^[4], 是沿海重要的海洋经济产品. 许多学者致力于提高其产量, 以获得更高的经济价值. 因此, 建立准确的坛紫菜生物量测定方法有着重要的科研与实践价值.

叶片是植物进行光合、蒸腾和呼吸作用的重要场所, 也是制造养分的主要器官^[5-6]. 叶片面积是体现植物生长、营养状况的重要指标, 也直接影响植物的受光, 是植物群体结构合理性的重要标志之一, 又是决定生物量和产量的关键因子^[7-8]. 叶面积的测量在高等植物中应用较多, 且已有研究证明小麦的干重与叶面积的相关性较高^[9-11]. 坛紫菜叶状体由单层细胞组成, 呈薄膜状^[12], 最后的收获产物是叶状体, 其面积大小就决定了收获的产量. 我们通过测量坛紫菜叶状体的面积来反映其生物量, 设计了相关性、变异系数、标准差与增量比值的试验, 探究这一测定方法的可行性, 以期得到一种坛紫菜叶状体测定的新方法, 成为灵敏、简便、精确的测定指标.

1 材料与方法

1.1 材料

坛紫菜于 2015 年 11 月采于象山. 当天进行挑选, 将完整、健康的叶状体挑出阴干, 密封保存于 -20 °C 的冰柜中.

材料复苏: 将保存在冰柜中的紫菜叶状体取出, 在充气烧瓶(2 L)中复苏 24 h. 复苏条件: 黑暗环境, 16 °C. 材料的复苏培养均在智能光照培养箱(GXZ 型)中进行.

材料培养: 将复苏后紫菜放入自然海水中培养, 24 h 充气, 培养温度 16 °C, 光暗时间 12L:12D, 光照强度 1 000 lx.

1.2 测量环境

光照试验: 采用单因子试验, 利用智能光照培养箱(GXZ 型)设置 300, 600, 1 500, 3 000, 5 000 lx 等 5 个光照梯度来模拟叶面积仪使用的环境(在进行某个单因素试验时, 其他 2 个因素不变), 随机挑选 5 条复苏后的紫菜, 每条紫菜重复测量 5 次, 无显著差异的因素取平均值.

温度试验: 设置 0, 10, 20, 30 °C 等 4 个温度梯度, 其他条件同上.

收稿日期: 2006-08-08.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 浙江省“十三五”水产新品种选育重大专项(2015GA701001).

第一作者: 俞辰泽(1991—), 女, 浙江慈溪人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 海洋生物. E-mail: yuchenze44@hotmail.com

*通信作者: 骆其君(1965—), 男, 浙江宁海人, 教授, 主要研究方向: 海洋生物. E-mail: luojijun@nbu.edu.cn

湿度试验: 设置 20%, 50%, 70%, 100% 等 4 个湿度梯度, 其他条件同上。

1.3 各指标的测定

随机挑选复苏后 40 条形状不一的紫菜叶状体, 使用叶面积仪(YCJ-C 型)测量它们的叶面积(mm^2)、长度(mm)、宽度(mm)、周长(mm), 使用电子天平测量它们的鲜重(mg)。各个指标分别测量 5 次。测量完毕之后将紫菜放入烘箱, 恒温烘干(45°C , 24 h), 记录相对应的干重(mg), 再以不同的干重区间将紫菜及其对应数据分成 4 组。

叶面积测量: 将紫菜叶状体尽量平整地铺在采集白板上, 待铺平后用吸水纸吸去表面水分, 再将覆盖膜放下。使用 YCJ-C 叶面积仪拍摄照片, 并测量出叶面积大小(可同时得到长度、宽度、周长等数据, 由于采集板面积限制, 叶面积仪的量程为 $100\sim 10\,000\text{ mm}^2$)。拍摄时用便携式支架固定到一定高度进行拍摄, 以拍到采集板的 6 个黑点为宜。

1.4 变异系数与增量的测定

随机挑选复苏后 40 条形状不一的紫菜叶状体, 测量它们的鲜重和叶面积, 分别按不同的数值区间分成 4 组, 分别测量 5 次。放入充气烧瓶培养 8 d, 分别在第 1 天、第 2 天、第 4 天和第 8 天按上述方法测量上述指标。

变异系数按 $R_{CV} = R_{SD} / R_{MN} \times 100\%$ 公式计算, 其中, R_{CV} 为变异系数; R_{SD} 为标准偏差; R_{MN} 为平均值。

坛紫菜增量按照 $N_t - N_0$ 公式计算, 其中, N_0 为前一次的测量值, N_t 为 t d 后的测量值。

1.5 数据计算及分析

所有数据均用 EXCEL 及 SPSS 软件进行处理, 采用方差分析鉴定数据差异性, 设置显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 环境因素对叶面积测定的影响

2.1.1 光强对叶面积测定的影响

表 1 为 5 条不同的紫菜(分别用 I、II、III、IV、V 表示)在不同光强下测得的叶面积值。由表 1 可知, 外界环境的光强越强, 测得的叶面积数值越小。若光强变动在 300 lx 之间, 其差异并不显著。虽然不同光强下测得紫菜叶面积的差异显著, 但其变异系数在 $1.569\%\sim 2.62\%$ 之间。而在相同光强下测得叶面积的变异系数则在 $0.12\%\sim 0.39\%$ 之间。在光源稳定的情况下(前后光强浮动控制在 300 lx 之内), 使用叶面积仪测得的数据非常稳定。

2.1.2 温度对叶面积测定的影响

表 2 为 5 条不同的紫菜(分别用 I、II、III、IV、V 表示)在不同温度下测得的叶面积值。由表 2 可知, 各温度组紫菜叶面积的差异并不显著, 外界环境温度对其测量并无影响。

同一条紫菜在不同温度和相同温度下, 测得紫菜叶面积的变异系数在 $0.13\%\sim 0.26\%$ 之间, 得到

表 1 不同光强环境对叶面积测量的影响

光照强度/ lx	I	II	III	IV	V
300	537.731 $\pm$ 1.454 ^a	1156.120 $\pm$ 3.131 ^a	1693.852 $\pm$ 2.512 ^a	2321.284 $\pm$ 5.551 ^a	2762.644 $\pm$ 6.463 ^a
600	535.432 $\pm$ 2.462 ^a	1151.183 $\pm$ 5.291 ^a	1686.610 $\pm$ 7.764 ^a	2317.053 $\pm$ 6.311 ^a	2767.560 $\pm$ 7.822 ^a
1 500	524.811 $\pm$ 1.974 ^b	1128.343 $\pm$ 4.244 ^b	1653.152 $\pm$ 6.211 ^b	2261.933 $\pm$ 8.502 ^b	2702.772 $\pm$ 10.162 ^b
3 000	511.051 $\pm$ 0.632 ^c	1098.770 $\pm$ 1.352 ^c	1609.824 $\pm$ 1.984 ^c	2202.642 $\pm$ 2.710 ^c	2631.934 $\pm$ 3.240 ^c
5 000	499.232 $\pm$ 0.751 ^d	1073.342 $\pm$ 1.611 ^d	1572.573 $\pm$ 2.360 ^d	2151.682 $\pm$ 3.234 ^d	2571.033 $\pm$ 3.861 ^d

注: 同一列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 2 不同温度环境对叶面积测量的影响

温度/ $^\circ\text{C}$	I	II	III	IV	V
0	536.205 $\pm$ 1.678	1152.122 $\pm$ 5.187	2755.465 $\pm$ 4.481	2321.123 $\pm$ 5.346	1686.379 $\pm$ 5.065
10	537.212 $\pm$ 3.229	1152.644 $\pm$ 6.123	2755.737 $\pm$ 3.228	2320.224 $\pm$ 4.003	1685.951 $\pm$ 5.217
20	533.741 $\pm$ 4.282	1148.961 $\pm$ 4.437	2756.360 $\pm$ 3.317	2316.932 $\pm$ 5.726	1690.291 $\pm$ 4.587
30	537.541 $\pm$ 2.415	1150.333 $\pm$ 4.223	2757.105 $\pm$ 4.160	2318.699 $\pm$ 4.477	1684.876 $\pm$ 6.777
平均值	535.931 $\pm$ 2.084	1151.471 $\pm$ 1.634	2755.733 $\pm$ 1.901	2319.159 $\pm$ 1.829	1686.655 $\pm$ 3.134

的数据非常稳定, 不受温度影响.

2.1.3 湿度对叶面积测定的影响

表 3 为 5 条不同的紫菜(分别用 I、II、III、IV、V 表示)在不同湿度下测得的叶面积值. 由表 3 可知, 各湿度组紫菜叶面积的差异并不显著, 外界环境湿度对其测量并无影响.

同一条紫菜在不同湿度下和相同湿度下, 测得紫菜叶面积的变异系数在 0.16%~0.21%之间. 得到的数据非常稳定, 不受湿度影响.

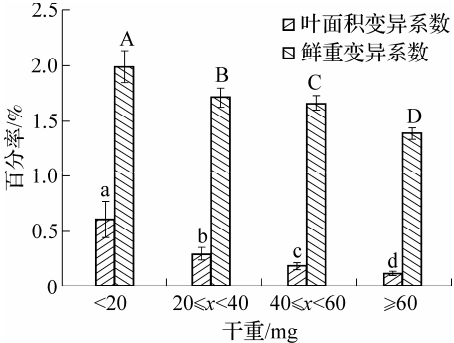
2.2 紫菜各指标与干重的相关性

由表 4 可知, 鲜重、叶面积指标均与干重显著相关, 其总体回归方程分别为 $y = 4.241x + 2.927$ 与 $y = 50.72x + 235.04$. 干重越小, 叶面积与其相关系数越大, 而鲜重与其相关系数却越小. 在干重 $<20\text{ mg}$ 的情况下, 长度与干重显著相关. 但宽度与干重的相关性正好相反, 当干重 $\geq 60\text{ mg}$ 时, 宽度

与干重显著相关. 周长的相关性情况与长度相似, 当干重 $<20\text{ mg}$ 时, 相关性显著.

2.3 紫菜变异系数与增量的分析

由图 1 可知, 叶面积变异系数小于鲜重的变异系数. 随着紫菜干重的增加, 叶面积的变异系数减小, 且减幅较大; 鲜重的变异系数也随着干重增加



注: 不同大小写字母均表示差异显著($P<0.05$)

图 1 不同干重紫菜两指标的变异系数

表 3 不同湿度环境对叶面积测量的影响

湿度/%	I	II	III	IV	V
20	537.883±0.160	1 155.674±5.722	1 681.860±3.564	2 321.254±3.170	2 756.493±5.406
50	537.004±0.845	1 154.326±1.190	1 685.236±1.158	2 319.863±1.921	2 755.636±1.437
70	536.569±2.234	1 157.158±2.330	1 685.084±0.904	2 321.016±3.603	2 753.574±4.758
100	537.231±1.936	1 158.660±0.908	1 686.478±2.684	2 323.430±3.242	2 758.646±2.771
平均值	537.172±1.294	1 156.454±2.538	1 684.665±2.078	2 321.391±2.984	2 756.087±3.593

表 4 不同干重紫菜的 5 种指标与干重的相关性

相关系数	干重/mg			
	<20	20≤x<40	40≤x<60	≥60
叶面积与干重的相关系数	0.998 ¹⁾	0.978 ¹⁾	0.971 ¹⁾	0.905 ¹⁾
鲜重与干重的相关系数	0.915 ¹⁾	0.927 ¹⁾	0.928 ¹⁾	0.935 ¹⁾
长度与干重的相关系数	0.868 ²⁾	0.806 ²⁾	0.650	0.692
宽度与干重的相关系数	0.736	0.745	0.855 ²⁾	0.887 ²⁾
周长与干重的相关系数	0.807 ²⁾	0.755	0.759	0.632

注: 1)相关检验为极显著($P<0.01$); 2)相关检验为显著($0.01<P<0.05$).

表 5 不同鲜重紫菜标准偏差与增量之比

鲜重/mg	培养时间/d			
	1	2	4	8
<100	160.825±31.646 ^{Aa}	56.086±17.164 ^{Ab}	18.182±6.157 ^{Ac}	3.922±1.489 ^{Ad}
100≤m<200	59.972±13.466 ^{Ba}	28.453±6.165 ^{Bb}	5.595±1.166 ^{Bc}	0.086±0.022 ^{Bd}
200≤m<300	17.551±5.165 ^{Ca}	4.157±1.247 ^{Cb}	0.542±0.097 ^{Cc}	0.023±0.012 ^{Cd}
≥300	14.280±4.746 ^{Ca}	1.261±0.350 ^{Db}	0.035±0.00 ^{Dc}	0.013±0.000 ^{Dd}
平均值	77.648±24.968	27.827±8.498	7.878±2.466	1.401±0.529

注: 同列不同大写字母表示差异显著($P<0.05$), 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下表同.

表6 不同叶面积紫菜标准偏差与增量之比

叶面积/mm ²	培养时间/d			
	1	2	4	8
<500	11.973±2.465 ^{Aa}	1.002±0.051 ^{Ab}	0.882±0.027 ^{Ac}	0.762±0.021 ^{Ad}
500≤a<1 500	5.868±1.523 ^{Ba}	0.594±0.137 ^{Bb}	0.322±0.072 ^{Bc}	0.082±0.022 ^{Bd}
1 500≤a<3 000	3.181±0.072 ^{Ca}	0.295±0.052 ^{Cb}	0.012±0 ^{Cc}	0±0 ^{Cd}
≥3 000	1.512±0.056 ^{Da}	0.016±0 ^{Db}	0±0 ^{Dc}	0±0 ^{Cc}
平均值	6.596±1.370	0.561±0.076	0.392±0.027	0.287±0.013

而减小, 而其减幅较小.

由表5可知, 随着鲜重的增加, 标准偏差与增量之比下降. 随着培养时间的增加, 两者之比也逐渐下降. 当鲜重<100 mg且只培养1 d时, 标准偏差大于紫菜的增量, 测量的准确性严重影响了试验的结果; 培养至第2天, 才降至56.086%. 可见测量鲜重的方式难以在短时间内准确地反映紫菜的生长量, 其灵敏性差.

由表6可知, 随着叶面积的增加, 标准偏差与增量之比下降, 随着培养时间的增加, 两者之比也逐渐下降. 在培养2d后, 两者之比几乎都小于1%, 其影响可忽略不计. 与鲜重相比较, 其灵敏度及准确性大大提高.

3 讨论

叶面积在高等植物中早有研究, 它关系到植物的光合效率, 是研究植物生长发育、产量形成和栽培特性的重要性状指标之一^[13]. 在许多高等植物测量叶面积的方法中, 常把叶面积仪法作为标准^[14-17], 它具有测定准确、重复性好、操作简单等特点. 本文使用YCY-C型叶面积仪测量紫菜叶面积, 结果显示不同温度和湿度对其测量结果无显著性影响, 且变异系数在0.13%~0.26%之间, 证明此方法重复性好、稳定性高. 鉴于光强对叶面积测量有一定影响, 推测光线强弱会影响软件中的抠图面积, 因此使用时需注意保持光源均匀一致. 在同一光源下测得的叶面积, 其变异系数在0.12%~0.39%之间.

使用叶面积反映紫菜生物量具有明显的优势. 在相关性分析中可以看到, 叶面积与干重呈显著相关, 与小麦中的相关性结果一致^[9-11]. 两者相关性随着紫菜干重的增加而减小, 原因可能是由于较大的紫菜边缘褶皱增多、厚度不均匀等造成. 除

此之外, 鲜重也与干重呈显著相关, 因此不少研究以鲜重来反映紫菜的生物量^[18-23], 如设置生态环境试验组培养紫菜, 通过测量在固定时间内紫菜鲜重的增长量来筛选促进其生长的条件. 鲜重与干重的相关性随着干重的减小而减小, 可能是由于干重小的紫菜在相同时间内失水更快的缘故. 长度在干重较小的情况下与其显著相关, 而宽度则在干重较大的情况下相关. 因此在某些特定条件下, 测量长宽也能在一定程度上反映紫菜的生物量, 但由于其快速方便的操作, 很多研究仍然在使用^[24]. 从变异系数的分析来看, 测得的不同干重紫菜的叶面积变异系数在0.112~0.597之间, 均小于1%, 而测得的鲜重变异系数则在1.379~1.986之间, 均大于1%. 相较于鲜重, 叶面积的精确性更高. 若涉及到紫菜生长的试验, 叶面积能灵敏地反映其生长量的变化. 特别是干重小的紫菜, 即使只培养1d, 其标准偏差也只占增量的11.973%, 而相同情况下鲜重的标准偏差则超过增量, 一方面, 干重小的紫菜其测量误差相对较大, 而培养1d后鲜重增量又少, 导致两者比值大幅上升, 严重影响了准确性. 综上所述, 叶面积以其灵敏性、简便、精确更占优势, 可以作为紫菜等海藻形态、育种研究的一项重要指标.

叶面积测量在藻类的试验中的还未有应用报道, 在进行研究时, 若以较小的紫菜为材料, 尤其是想在短时间内就能反映紫菜的生长情况, 测量其叶面积是一个非常稳定可靠的选择, 这也为其他藻类的测量提供了新思路. 但此方法也有局限性, 若是紫菜面积超过测量范围, 或是褶皱过多, 便不能很好地反映紫菜的生物量.

参考文献:

- [1] 陈人弼. 坛紫菜主要营养成分的分析[J]. 台湾海峡, 1999, 18(4):465-468.

- [2] 张学成, 秦松, 马家海, 等. 海藻遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005:184-235.
- [3] FOTT B. 藻类学[M]. 罗迪安, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 1971:278-295.
- [4] 王清印. 海水养殖生物的细胞工程育种[M]. 北京: 海洋出版社, 2007:436-459.
- [5] 姚运生, 孙光伟, 黄晓丹. 穿山龙叶面积与生物量的相关性研究[J]. 作物杂志, 2008(6):38-40.
- [6] 覃学强. 八角叶面积野外速测[J]. 广西林业科学, 2001, 30(3):147-147.
- [7] 万信, 李巧珍, 方德彪, 等. 一种马铃薯叶面积校正系数的确定方法[J]. 资源科学, 2012, 34(8):1533-1537.
- [8] 盛双, 王国聪, 颜权, 等. 大叶桉叶面积测定方法的比较研究[J]. 广西林业科学, 2011, 40(2):140-142.
- [9] 谢令琴, 王晓燕, 葛淑俊, 等. 不同熟期及粒重小麦品种叶重和叶面积与其产量关系的研究[J]. 中国农学通报, 2002, 18(3):10-12.
- [10] 庞红喜, 宋哲民. 不同穗型小麦品种叶重与叶面积关系的研究[J]. 麦类作物学报, 1998(1):39-40.
- [11] 王义芹, 杨兴洪, 李滨, 等. 小麦叶面积及光合速率与产量关系的研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(Sup):10-15.
- [12] 钱树本. 海藻学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2014:122-123.
- [13] 曾燕蓉, 朱方容, 林强, 等. 几种桑树叶面积测量方法及叶片大小与叶片质量的相关性分析[J]. 蚕业科学, 2013(5):868-876.
- [14] FENG D X, SHI S. Research on night measurement methods of leaf area[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(6):150-152.
- [15] LU M. Study on measuring methods of leaf area of loquat[J]. Fujian Fruits, 2003(1):1-2.
- [16] 柏军华, 王克如, 初振东, 等. 叶面积测定方法的比较研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版, 2005, 23(2):216-218.
- [17] XIAO Q, YE W J, ZHU Z, et al. A simple non-destructive method to measure leaf area using digital camera and Photoshop software[J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(6):711-714.
- [18] 吴海一, 丁刚, 徐智广. 不同氮浓度下盐胁迫对坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)生长和光合作用的影响[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5):1210-1217.
- [19] 丁柳丽, 刘露, 邹定辉. 不同温度与CO₂浓度对坛紫菜生长和光合作用温度反应特性的影响[J]. 生态科学, 2013, 32(2):151-157.
- [20] 徐军田, 高坤山. CO₂升高和阳光紫外辐射对坛紫菜生长和光合特性的耦合效应[J]. 海洋学报(中文版), 2013, 35(5):184-190.
- [21] 柳佩娟. 不同色泽坛紫菜的生长性状及选育的研究[D]. 厦门: 集美大学, 2008.
- [22] 吴小凯, 朱竹君, 杨锐, 等. 紫菜共附生真菌次生代谢产物对坛紫菜生长的影响[J]. 海洋学研究, 2011, 29(2):89-99.
- [23] NIWA K, HARADA K. Physiological responses to nitrogen deficiency and resupply in different blade portions of *Pyropia yezoensis* f. *narawaensis*, (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2013, 439:113-118.

A new method for measuring thallus of *Pyropia haitanensis*

YU Chen-ze, LUO Qi-jun*, YU Bei, YAN Xiao-jun

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: A series of experiments were conducted to investigate the different biomass of the altar, in order to employ leaf *Pyropia haitanensis* method instead of the traditional measuring method. The effect of light, temperature and humidity on the measurement results of leaf area was examined in this paper. The study also examined the correlation, the coefficient of variation, the standard deviation and the increment ratio test. The results showed that the correlation between leaf area and dry weight was very significant. The variation coefficient of leaf area was the least, which was less than 1%, and its standard deviation and increment ratio were less than other indexes. In the experimental ecological study of the experiment, the leaf area was more sensitive, simpler and more accurate. As such, leaf area can be used as an important index in the study of morphology and breeding of seaweed or other algae.

Key words: *Pyropia haitanensis*; leaf area; dry weight; variation coefficient

(责任编辑 章践立)